

Afdeling SERH 1984-03-06  
RAPPORT 84.21 Pr.nr. 505.0620  
Onderwerp: Vergelijkend onderzoek DES  
in 50 monsters urine,  
mei 1982.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofd (3x), direktie VKA, afdeling SERH  
(4x), afd. Normalisatie/Harmonisatie (Humme), Projekt-  
beheer, Projektleider (De Ruig).



Project: Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van hormonen.

Onderwerp: Vergelijkend onderzoek DES in 50 monsters urine, mei 1982.

---

Op initiatief van de werkgroep EVATH is een ringonderzoek op DES uitgevoerd aan 50 monsters door 5 instituten, t.w. BCO, CIVO, KUN, RIKILT en RIV, met in totaal 5 verschillende methoden, nl.: radio-immunoassay met voorzuivering, radio immuno assay zonder voorzuivering, dunnelaagchromatografie, electrochemische detectie en gaschromatografiemassaspectrometrie.

Doel:

Een beter inzicht verkrijgen in:

- de mate van overeenstemming in resultaten van de verschillende instituten, vooral v.w.b. de GCMS als bevestigingstechniek
- de mate van betrouwbaarheid van en overeenstemming tussen de verschillende analysetechnieken.

Samenvatting:

In dit rapport zijn de resultaten verzameld, die door het RIKILT verkregen zijn met RIA met voorzuivering, RIA zonder voorzuivering, HPTLC, LC-EC en GC-MS.

Conclusies:

- Bij de RIA met voorzuivering is er een fraaie overeenstemming zowel binnen het instituut als tussen het RIKILT en de overige instituten (1).
- Bij geen van de toegepaste technieken werden urines zonder stilbenen als "positief" aangemerkt: geen "vals positieve" resultaten.
- Voor de andere technieken kan ruwweg gesteld worden:
  - beneden 0,5 µg/l: geen detectie
  - 0,5 - 1 µg/l: "grijs gebied": soms wel, soms niet gedetecteerd
  - boven 1 µg/l: detectie mogelijk.Aangezien er vrijwel geen monsters boven 1,2 µg/l bij waren, geeft dit ringonderzoek geen informatie over hogere gehalten.

- Monsters waaraan dienestrol (DE) of hexestrol (HEX) toegevoegd waren (de laatste 6 resultaten in de tabellen) werden met RIA positief gevonden, overeenkomstig de verwachting.
- Met geen van de andere technieken (HPTLC, LCEC, GCMS) werden de twee monsters die uitsluitend DE resp. HEX bevatten, positief op DES bevonden.
- De resultaten van het GCMS onderzoek geven de indruk dat
  - boven 1 ppb overeenstemmende identificatie onder routineomstandigheden mogelijk is
  - beneden 0,3 ppb geen identificatie mogelijk is
  - tussen 0,3 en 1 ppb identificatie soms wel en soms niet haalbaar is
  - aanwezigheid van de DE of HEX geen aanleiding geeft tot valspositieve identificatie van DES.

---

Verantwoordelijk: dr W.G. de Ruig

Samensteller : dr W.G. de Ruig

Medewerkers : M.C.J. Berghmans, H. Hooijerink, H.J. Keukens,  
Th.H.G. Polman, T.D.B. van der Struijs, W.A. Traag,  
ir L.G.M.Th.Tuinstra, J.M. Weseman.

Projectleider : dr W.G. de Ruig

## INHOUD

Blz.

1. Inleiding	1
2. Uitvoering ringonderzoek	2
3. Resultaten	3
4. Bespreking van de afzonderlijke analysetechnieken	4
4.1 RIA met voorzuivering	4
4.2 RIA zonder voorzuivering	6
4.3 Dunnedlaagchromatografie	6
4.4 LCEC	7
4.5 GCMS	7
5. Conclusie	9

## AFKORTINGEN

BCO	Bergschot Centrum voor Onderzoek, Breda.
CIVO-TNO	Hoofdgroep voeding en voedingsmiddelen TNO CIVO-Instituten TNO, Zeist.
KUN	Katholieke Universiteit, Nijmegen Afd. voor Experimentele en Chemische Endocrinologie.
RIKILT	Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten, Wageningen.
RIV	Rijksinstituut voor de Volksgezondheid, Bilthoven.
RIA	: Radio immuno assay.
HPLC	: Hoge-prestatie vloeistofchromatografie.
RIA-direct:	RIA na etherextractie, maar zonder chromatografische voor- zuivering.
Celite RIA:	RIA met chromatografische voorzuivering door middel van Celite (Chromatolithe-A) kolom.
PC-RIA	: RIA met chromatografische voorzuivering door middel van papierchromatografie.
HPLC-RIA	: RIA met chromatografische voorzuivering door middel van HPLC.
HPTLC	: Hoge-prestatie dunnelaagchromatografie.
LC EC	: Scheiding door middel van HPLC, gevolgd door detectie door middel van electrochemie.
GC MS	: Scheiding door middel van gaschromatografie, gevolgd door detectie door middel van massaspectrometrie.

## 1. Inleiding.

Op initiatief van de werkgroep EVATH is een ringonderzoek met 50 monsters urine uitgevoerd voor het aantonen en bepalen van DES met radio immuno assay en met gaschromatografie-massaspectrometrie, het zg.

"Eerste EVATH ringonderzoek" (1).

Het doel van het ringonderzoek was, een beter inzicht te verkrijgen in

- de mate van overeenstemming in analyseresultaten van de verschillende instituten

- de mate van betrouwbaarheid van een overeenstemming tussen de verschillende bovengenoemde analysetechnieken.

Naast de reeds genoemde onderzoeksmethoden, zijn door de verschillende instituten op eigen initiatief ook andere methoden toegepast.

Uiteindelijk hebben de volgende instituten meegedaan met de daarbij genoemde technieken.

BCO : Celite-RIA, GCMS

CIVO-TNO : Celite-RIA, GCMS

KUN : PC-RIA

RIKILT : Celite-RIA, RIA direct, HPTLC, LCEC, GCMS

RIV : HPLC-RIA, RIA direct, HPTLC, GCMS.

Er dienden uit dit ringonderzoek antwoorden te worden verkregen op de volgende vragen:

1. Leveren de celite-RIA bepalingen zoals uitgevoerd door het RIKILT en het BCO gelijke resultaten binnen de bekende spreiding van de methode op het beslissingsniveau van 1 ppb?
  2. Tot welk "stilbeen" gehalte zoals bepaald via de celite-RIA (en berekend als DES-equivalent) is het mogelijk met HPLC-GCMS via RIA aangetoonde "DES" te identificeren onder routine omstandigheden?
  3. Is het CIVO-TNO met de HPLC-GCMS (RIV, II) methode in staat gelijkwaardige kwalitatieve resultaten te verkrijgen als het RIV?
- Dit geldt voor het aspect van "fout positieve" resultaten, maar in het bijzonder ook voor "fout negatieve" resultaten.



4. Zijn beide principieel verschillende HPLC-GCMS methodieken, - multi-ion detectie versus single-ion detectie plus exacte massameting -, zoals toegepast door het RIKILT enerzijds en het RIV en het CIVO-TNO anderzijds, in de praktijk in verschillende mate gevoelig voor interferentie door storende urinecomponenten waaronder dieneestrol en hexestrol, hetgeen kan leiden tot "fout negatieve" resultaten?

## 2. Uitvoering ringonderzoek.

Het ringonderzoek is uitgevoerd aan 50 representatieve monsters runderurine. Deze zijn door het RIV bereid, en wel op de volgende wijze:

1. Uit een honderdtal monsters urine afkomstig van runderen van proefboerderijen en vergelijkbare instellingen werden 50 mengmonsters DES-vrije "nulurine" samengesteld. Deze monsters vertoonden in de celite-RIA (BCO) géén "stilbeen"-responsie.
2. De mengmonsters werden tendele verrijkt met een berekende hoeveelheid urinair DES bevattende stiere-urine afkomstig uit de RIV-IVVO "stiere-proef", zodanig, dat de 50 mengmonsters een gehalte aan urinair DES zouden vertonen tussen 0 en 5 µg/l (ppb), zoals bepaalbaar via de celite-RIA (BCO).
3. Een aantal van de mengmonsters werd ook verrijkt met standaard ( $\alpha$ -)dienestrol (DE) en/of (meso-)hexestrol (HEX).
4. Voor het onderzoek werden per techniek series van 50 monsters separaat verpakt. Het monstervolume bedroeg voor RIA met voorzuivering: 5 ml, RIA zonder voorzuivering: 5 ml, DLC: 50 ml, LC-EC: 25 ml en GCMS: 30 ml.
5. Alle monsters werden per serie "ad random" gecodeerd en aan de onderzoekers tegen ontvangstbewijs ter beschikking gesteld.

De voorschriften voor het uitvoeren van de RIA bepaling, volgens brief RIV nr. U 1431/82 Endo Ja/cq van 1982-05-21 luiden (voor de andere technieken golden overeenkomstige instructies):



"De te verwachten gehalten aan DES liggen tussen 0-4 µg DES per liter urine". Het DES gehalte dient voor alle 50 monsters volgens eenzelfde procedure bepaald te worden via onafhankelijke duplo's. Indien de monsters niet direct in bereiding genomen kunnen worden, dienen zij bij +4°C bewaard te worden. De resultaten van het onderzoek dienen uiterlijk 3 weken na ontvangst schriftelijk gerapporteerd te worden aan het RIV. Van elk monster dienen de individuele duplogehalten en het gemiddelde gehalte gerapporteerd te worden. De gehalten dienen voor opwerkingsverliezen gecorrigeerd te zijn! Eveneens dienen de waarden van het terugwinningspercentage gerapporteerd te worden."

Aan 6 van de 50 monsters was dienestrol of hexestrol toegevoegd - de deelnemers waren hier niet van op de hoogte - en wel als volgt:

monster nr. 2	20 µg/1 DE	+	0,0 µg/1 DES
monster nr. 6	20 µg/1 DE	+	0,5 µg/1 DES
monster nr. 45	20 µg/1 DE	+	1,3 µg/1 DES
monster nr. 16	5 µg/1 HEX	+	0,0 µg/1 DES
monster nr. 37	5 µg/1 HEX	+	0,9 µg/1 DES
monster nr. 43	5 µg/1 HEX	+	1,1 µg/1 DES

Van de overige monsters waren er 8 blanco urines, de rest bestond uit blanco urines waaraan urinair DES toegevoegd was. De gehalten die deze monsters volgens berekening hadden moeten hebben zijn in Tabel 1 vermeld onder "streefwaarden". De werkelijke gehalten zijn wat lager uitgevallen, vermoedelijk o.a. door adsorptie aan de wand.

### 3. Resultaten.

De resultaten die in dit ringonderzoek door het RIKILT werden verkregen zijn weergegeven in de tabellen 1 t/m 5.

Tabel 1 RIA met chromatografische voorzuivering.

Tabel 2 RIA zonder voorzuivering.

Tabel 3 DLC.

Tabel 4 LCEC.

Tabel 5 GCMS.

Hierbij is het gemiddelde van de uitslagen van de RIA met voorzuivering (tabel 1) van de vijf instituten als een soort referentie aangehouden (zonder hiermee te suggereren dat deze waarden de beste benadering van de werkelijke gehalten vormen).

Deze gemiddelden zijn ook in de andere tabellen mede vermeld.

In alle tabellen zijn de uitslagen gerangschikt naar opklimmend gehalte van deze gemiddelden.

Er is bovendien met stippellijnen een verdeling gemaakt in:

- monsters waaraan geen DES was toegevoegd
- monsters  $> 0$  maar  $< 1 \mu\text{g/l}$  (gem. RIA met voorzuivering)
- monsters  $> 1 \mu\text{g/l}$ .

Volgens de opzet van deze ringtest zijn de monsters in duplo geanalyseerd (behalve met GCMS); de aldus verkregen uitkomsten zijn hier gerapporteerd. Dit is dus anders als bij normaal monsteronderzoek, waar bij men gewoonlijk analyseert tot twee "overeenstemmende duplo's" verkregen zijn.

#### 4. Bespreking van de afzonderlijke analysetechnieken.

##### 4.1 RIA met voorzuivering

Enige technische informatie over de proefomstandigheden is verzameld in onderstaand staatje.

	RIKILT
RIA methode	Chromatolithe A
Antiserum	RIV 646/647
Duplo's in intra of interassay	inter
Gemiddelde terugvinding	36,0%
Standaardafwijking	5,2%

De gevonden gehalten kloppen in het algemeen zeer redelijk, zowel tussen de duplowaarden als voor onze resultaten in vergelijking met die van de andere resultaten, als gerapporteerd in het EVATH-3 rapport. In ander verband werd op het RIKILT voor de herhaalbaarheid van een enkelvoudige bepaling op 1 ppb niveau een variatiecoëfficiënt van 20% gevonden, m.a.w. "1 ppb" betekent een waarde die met 95% waarschijnlijkheid ligt tussen 0,6 en 1,4 ppb.

De 8 monsters die samengesteld zijn uit urines zonder stilbenen zijn negatief bevonden, m.a.w. er zijn geen vals positieve uitslagen bij. Van deze monsters werden zeer lage gehalten geregistreerd, die niet uitkomen boven de "ruis" van de bepaling.

Fraai is ook dat deze 8 monsters bovenaan de ranglijst zijn gekomen bij de rangschikking volgens opklimmend gehalte. Dat wil zeggen monsters waarin "iets" DES aanwezig is, zijn inderdaad hoger gevonden dan de blanco urines. De "ruis" van de bepaling, d.w.z. de resultaten die gevonden zijn voor blanco urines liggen bij 0,1 à 0,2 µg/l. Alle monsters die DES bevatten komen boven deze ruis uit.

Aangezien het bekend is dat DE en HEX een kruisreactie geven met de gebruikte DES-antilichamen is het in overeenstemming met de verwachting dat bij de uitslagen waaraan DE of HEX was toegevoegd, aanwezigheid van DES geconstateerd wordt. De juiste opgave van het meetresultaat zou ook niet moeten luiden: "... µg/l DES", maar "... µg/l stilbenen, uitgedrukt als DES".

Op de resultaten van RIA na voorzuivering is een lineaire regressie-analyse uitgevoerd. De resultaten zijn als volgt:

Lineaire regressie,

$$y = A + B x$$

Aantal waarnemingen	44
Asafsnede A	-0,184
Standaardafwijking A	-0,036
Helling B	1,224
Standaardafwijking B	0,040
Standaardafwijking y.x	0,152
Correlatiecoefficient	0,979

De bijbehorende regressielijn is opgenomen achter in dit rapport.



#### 4.2 RIA zonder voorzuivering (3)

De resultaten, die met deze methode verkregen zijn, liggen over de hele lijn iets hoger dan van de RIA met voorzuivering.

Ook hierbij geldt, dat in alle positief geregistreeerde gevallen inderdaad DES aanwezig was, ook hier zijn er dus geen vals-positieve resultaten. Uiteraard worden ook hier DE en HEX mede gemeten.

#### 4.3 Dunnelaagchromatografie (4)

De aantoonbaarheid bij deze methode begint soms al bij 0,3 ppb, maar in sommige monsters met hogere gehalten wordt toch geen DES aangetoond. Dit laatste bleek teruggevoerd te kunnen worden tot het opvangen van verkeerde fracties; dit is intussen nader onderzocht en verbeterd (5).

Alle monsters zonder DES zijn ook inderdaad negatief bevonden, dit geldt ook voor de monsters waar DE of HEX aan toegevoegd was: geen vals positieven, ook niet door DE of HEX.

De monsters met DE of HEX en bovendien DES zijn soms wel, soms niet positief verklaard, zie de tabel. Het geringe aantal monsters verbiedt enige verdere conclusie.

#### 4.4 LCEC (6)

Deze detectiemethode is alleen uitgevoerd door het RIKILT. De in de tabel gehanteerde classificatie is gebaseerd op de vraag: in welke gevallen kan de aanwezigheid van DES onomstotelijk aangetoond geacht worden? Hierbij is rekening gehouden met de plaats, de grootte en de vorm van de piek in het chromatovoltammogram.

De gehalten zijn gecorrigeerd voor terugvinding; vooral bij de lagere gehalten zijn deze waarden niet of nauwelijks kwantitatief te interpreteren.

Evenals bij de DLC, kunnen ook hier door het opvangen van verkeerde fracties monsters ten onrechte niet als positief geïnterpreteerd zijn. Bij de monsters met DE en HEX stoorde de aanwezigheid hiervan niet. Ook hier zijn geen vals positieve uitkomsten verkregen.

#### 4.5 GCMS (7,8,9,10)

Bij het RIKILT vindt na voorafgaande HPLC voorzuivering identificatie plaats met laag oplossend vermogen, "multiple ion" "electron impact" GCMS, door meting van m/z 341, 447, 631 en 660.

Toelichting op de tabel:

- DES niet identificeerbaar volgens EVATH normen
- + urinaire responsie als DES geïdentificeerd volgens EVATH normen

Voor de GCMS methode betekent "positief" dat trans-DES ondubbelzinnig geïdentificeerd was als aanwezig in de urine. De criteria hiervoor zijn vermeld in het EVATH rapport, juli 1982, blz. 29-31 (11).

De monsters zonder DES zijn in alle gevallen als negatief geïdentificeerd, ook als DE of HEX aanwezig was: geen vals-negatieve uitslagen. De aanwezigheid van DE of HEX stoort niet.

#### 5. Conclusies

- Bij de RIA met voorzuivering is er een fraaie overeenstemming zowel binnen het instituut als tussen het RIKILT en de overige instituten.
- Bij geen van de toegepaste technieken werden urines zonder DES als "positief" aangemerkt: geen "vals positieve" resultaten.
- Voor de RIA met voorzuivering is de "ruis" 0,1 à 0,2 µg/l. Gehalten direct daarboven worden al geregistreerd.
- Voor de andere technieken kan ruwweg gesteld worden:
  - beneden 0,5 µg/l: geen detectie
  - 0,5 - 1 µg/l: "grijs gebied": soms wel, soms niet gedetecteerd
  - boven 1 µg/l: detectie mogelijk.Aangezien er vrijwel geen monsters boven 1,2 µg/l bij waren, geeft dit ringonderzoek geen informatie over hogere gehalten.
- Monsters waaraan dienestrol (DE) of hexestrol (HEX) toegevoegd waren (de laatste 6 resultaten in de tabellen) werden met RIA positief gevonden, overeenkomstig de verwachting.
- Met geen van de andere technieken (DLC, LCEC, GCMS) werden de twee monsters die uitsluitend DE resp. HEX bevatten, positief bevonden.

- De resultaten van het GCMS onderzoek geven de indruk dat
  - boven 1 ppb overeenstemmende identificatie onder routineomstandigheden mogelijk is
  - beneden 0,3 ppb geen identificatie mogelijk is
  - tussen 0,3 en 1 ppb identificatie soms wel en soms niet haalbaar is
  - aanwezigheid van de DE of HEX geen aanleiding geeft tot valspositieve identificatie van DES.



Tabel 1 RIA met chromatografische voorzuivering ( $\mu\text{g/l}$ )

Nr.	Streefwaarde	Chrom.	RIKILT		
		RIA gem.			
44	0	0,05	0,0	0,0	
49	0	0,06	0,0	0,0	
20	0	0,07	0,0	0,0	
34	0	0,07	0,0	0,0	
50	0	0,08	0,1	0,0	Blanco urines
9	0	0,09	0,1	0,0	
31	0	0,10	0,1	0,0	
25	0	0,20	0,1	0,0	
3	0,4	0,27	0,2	0,1	
1	0,3	0,33	0,2	0,3	
14	0,5	0,33	0,3	0,2	
41	0,8	0,34	0,2	0,2	
13	0,4	0,35	0,2	0,0	
32	0,7	0,36	0,4	0,2	
4	0,5	0,38	0,5	0,5	
30	0,9	0,38	0,3	0,4	
7	0,7	0,41	0,2	0,3	RIA gem. tussen 0 en 1 µg/l
33	0,9	0,41	0,4	0,3	
15	0,6	0,45	0,4	0,5	
35	0,8	0,50	0,4	0,4	
10	0,9	0,53	0,5	0,4	
42	1,0	0,55	0,6	0,6	
5	0,6	0,57	0,5	0,5	
8	0,8	0,58	0,5	0,4	
23	1,1	0,61	0,0	0,4	
19	0,9	0,64	0,4	0,6	
21	1,1	0,68	0,8	0,4	
17	0,7	0,70	0,5	0,5	
26	0,9	0,70	0,4	0,7	
18	0,8	0,84	1,0	0,4	
27	1,0	0,85	0,8	0,7	
36	0,9	0,87	0,6	0,7	
11	1,0	0,91	1,0	0,8	
40	1,5	0,94	1,1	1,0+	
38	1,1	1,06	1,0	0,9	
12	1,3	1,09	1,0	1,0+	
22	1,2	1,10	1,2	1,2+	
39	1,4	1,11	1,1	1,0+	
28	1,2	1,18	1,3	1,1+	
24	1,5	1,20	1,1	1,3+	RIA gem. < 1 µg/l
29	1,8	1,57	1,7	1,8+	
47	2,5	1,71	1,8	2,2+	
46	3,0	2,46	2,8	2,4+	
48	3,8	2,69	5,0	2,4+	
2	0 + 20 DE	1,04	1,3	0,8+	Toevoeging DE
6	0,5 + 20 DE	1,47	1,3	1,2+	
45	1,3 + 20 DE	2,10	2,9	1,5+	
16	0 + 5 HEX	0,96	0,9	0,9	Toevoeging HEX
37	0,9 + 5 HEX	1,73	1,7	1,8+	
43	1,1 + 5 HEX	2,32	4,0	3,1+	

+ = gemiddelde > 1  $\mu\text{g/l}$ 

) = monsters zonder DES

Tabel 2 RIA zonder chromatografische voorzuivering ( $\mu\text{g/l}$ )

Nr.	RIKILT			Chrom.
	1	2	gem.	RIA gem.
44	0,2	0,2	0,2	0,05
49	0,2	0,3	0,3	0,06
20	1,0	0,7	0,8	0,07
34	0,3	0,2	0,2	0,07
50	0,9	0,7	0,8	0,08
Blanco urines				
9	0,4	0,4	0,4	0,09
31	0,5	0,3	0,4	0,1
25	0,3	0,3	0,3	0,2
3	0,5	0,2	0,4	0,3
1	0,8	0,4	0,6	0,3
14	0,6	0,7	0,6	0,3
41	0,3	0,3	0,3	0,3
13	0,9	0,9	0,9	0,4
32	1,0	0,9	1,0	0,4
4	0,6	0,5	0,6	0,4
30	0,7	0,7	0,7	0,4
7	1,1	0,9	1,0+	0,4
33	0,6	0,7	0,7	0,4
15	0,9	0,6	0,7	0,4
35	1,0	0,7	0,9	0,5
0 < RIA gem. < 1 $\mu\text{g/l}$				
10	1,0	0,9	1,0	0,5
42	0,9	0,4	0,7	0,5
5	1,0	0,7	0,8	0,6
8	0,9	1,1	1,0	0,6
23	0,8	0,8	0,8	0,6
19	1,2	1,2	1,2+	0,6
21	1,1	0,6	0,9	0,7
17	1,1	1,4	1,2+	0,7
26	1,2	1,0	1,1	0,7
18	1,8	1,8	1,8+	0,8
27	1,2	1,1	1,2+	0,8
36	1,7	1,3	1,5+	0,9
11	1,2	1,1	1,2+	0,9
40	1,1	0,8	1,0	0,9
38	1,8	1,1	1,4+	1,1+
12	1,5	1,4	1,4	1,1+
22	1,6	0,8	1,2+	1,1+
39	1,4	1,0	1,2+	1,1+
28	2,0	1,9	1,9+	1,2+
24	0,9	0,8	0,9	1,2+
RIA gem. < 1 $\mu\text{g/l}$ > 1 $\mu\text{g/l}$				
29	1,4	1,4	1,4+	1,6+
47	2,2	1,7	2,0+	1,7+
46	1,6	1,3	1,4+	2,5+
48	3,2	2,2	2,7+	2,7+
2	1,2	1,0	1,1+	1,0+ (20 DE)
6	1,2	1,9	1,5+	1,5+ (20 DE + 0,4 DES)
45	4,2	2,8	3,5+	2,1+ (20 DE + 1,3 DES)
16	1,6	1,5	1,6+	1,0+ (5 HEX)
37	3,2	2,4	2,8+	1,7+ (5 HEX + 0,8 DES)
43	3,1	2,6	2,9+	2,3+ (5 HEX + 1,1 DES)

+ = gemiddelde > 1  $\mu\text{g/l}$ 

) = monsters zonder DES

Tabel 3 DUNNELAAGCHROMATOGRAFIE

Chrom.

Nr.	RIKILT		RIA gem.	
44	-	-	0,05	
49	-	-	0,06	
20	-	-	0,07	
34	-	-	0,07	
50	-	-	0,08	
				Blanco
9	-	-	0,09	
31	-	-	0,1	
25	-	-	0,2	
3	a	-	0,3	
1	a	+	0,3	
14	+	a	0,3	
41	-	-	0,3	
13	a	a	0,4	
32	-	-	0,4	
4	-	a	0,4	
30	-	-	0,4	
7	+c	+c	0,4	
33	+	+	0,4	
15	a	a	0,4	
35	a	a	0,5	
				0 < RIA gem. < 1 µg/l
10	-	-	0,5	
42	+c	a	0,5	
5	a	+	0,6	
8	-	a	0,6	
23	+c	+c	0,6	
19	a	-	0,6	
21	a	a	0,7	
17	+c	+	0,7	
26	+	-	0,7	
18	+c	+c	0,8	
27	+	+	0,8	
36	+c	+c	0,9	
11	a	a	0,9	
40	+c	+	0,9	
38	-	+c	1,1	
12	a	-	1,1	
22	-	a	1,1	
39	-	-	1,1	
28	-	+c	1,2	
24	-	+c	1,2	
				RIA gem. > 1 µg/l
29	-	-	1,6	
47	+	+	1,7	
46	+c	-	2,5	
48	-	-	2,7	
2	-	-	1,0 (20 DE)	
6	-	-	1,5 (20 DE + 0,4 DES)	
45	+c	+c	2,1 (20 DE + 1,3 DES)	
16	-	-	1,0 (5 HEX)	
37	-	a	1,7 (5 HEX + 0,8 DES)	
43	-	-	2,3 (5 HEX + 1,1 DES)	

Waarneembaarheid DLC  
vlekken:

- = niet  
 = waarneembaar  
 a = nauwelijks  
 = waarneembaar  
 + = duidelijk  
 = waarneembaar  
 c = ook cis-vlek  
 = waarneembaar  
 ) = monsters zonder DES

Tabel 4 LCEC ( $\mu\text{g}/1$ )

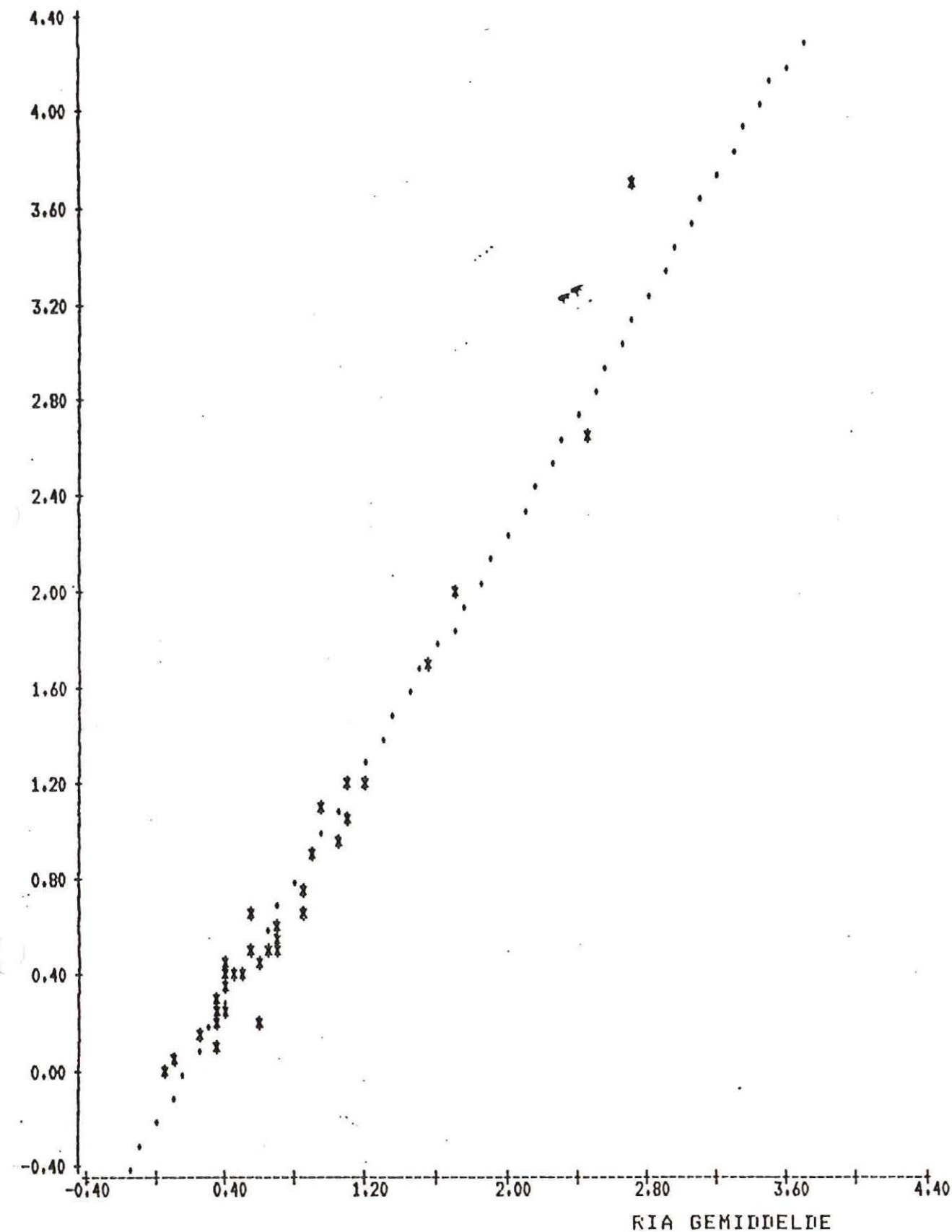
Nr.	RIKILT			Class.	Chrom. RIA gem.	
	1	2	3			
44	0,6	0,5		-	0,05	) = monsters zonder DES  < = <0,5  * = chromatogram niet te interpreteren  ** = flesje gebroken  Classificatie, rekening houdend met plaats, grootte en vorm van de piek: - = kon niet als DES worden geïnterpreteerd  + = kon als DES worden geïnterpreteerd  +/- = interpretatie wisselend
49	<	<		-	0,06	
20	1,1	<	1,2	-	0,07	
34	<	<		-	0,07 Blanco	
50	<	<		-	0,08	
9	2,5	<		-	0,09	
31	<	<		-	0,1	
25	<	1,1	<	-	0,2	
3	<	<		-	0,3	
1	2,7	3,2		+	0,3	
14	1,2	1,8		+	0,3	
41	1,0	0,6		-	0,3	
13	<	<		-	0,4	
32	<	<		-	0,4	
4	<	<		-	0,4	
30	3,5	0,7	<	-	0,4	
7	<	<		-	0,4	
33	1,3	<	<	-	0,4	
15	**				0,4	
35	<	0,8		-	0,5	
10	<	1,1	<	-	0,5	
42	<	3,1	1,6	+	0,5	
5	0,8	0,7		+/-	0,6	
8	0,7	<		-	0,6	
23	0,7	1,2	0,7	+/-	0,6	
19	<	<		-	0,6	
21	<	<		-	0,7	
17	0,6	<		-	0,7	
26	<	<		-	0,7	
18	1,2	5,6	2,2	+	0,8	
27	<	<	<	-	0,8	
36	<	<		-	0,9	
11	<	<		-	0,9	
40	1,0	<	0,9	+/-	0,9	
38	0,6	1,1	<	+/-	1,1	
12	0,6	-		-	1,1	RIA gem. > 1 $\mu\text{g}/1$
22	2,4	<	<	+/-	1,1	
39	0,9	0,9		+	1,1	
28	1,7	<	0,7	+	1,2	
24	<	2,1	1,0	+	1,2	
29	1,1	2,0		+	1,6	
47	<	<		+/-	1,7	
46	2,2	1,6		+	2,5	
48	2,0	<		+/-	2,7	
2	<	0,5		-	1,0 (20 DE)	
6	0,7	<		-	1,5 (20 DE + 0,4 DES)	
45	*	2,2		+/-	2,1 (20 DE + 1,3 DES)	
16	<	<		-	1,0 (5 HEX)	
37	0,8	0,8		-	1,7 (5 HEX + 0,8 DES)	
43	<	1,0	<	-	2,3 (5 HEX + 1,1 DES)	

Tabel 5 GCMS

Nr.	RIKILT		Chrom. RIA gem.	
	$\mu\text{g/l}$	class.		
44	<0,5	-	0,05	
49	<0,5	-	0,06	
20	<0,5	-	0,07	
34	<0,5	-	0,07	Blanco
50	<0,5	-	0,08	
9	<0,5	-	0,09	
31	<0,5	-	0,1	
25	<0,5	-	0,2	
3	<0,5	-	0,3	
1	<0,5	-	0,3	
14	geen	analyse	0,3	
41	0,8	+	0,3	
13	<0,5	-	0,4	
32	<0,5	-	0,4	
4	0,6	+	0,4	
30	<0,5	-	0,4	sp.DE
7	0,8	+	0,4	
33	<0,5	-	0,4	
15	0,9	+	0,4	
35	1,1	+	0,5	
10	<0,5	-	0,5	0 < RIA gem.
42	<0,5	-	0,5	< 1 $\mu\text{g/l}$
5	<0,5	-	0,6	
8	0,9	+	0,6	
23	0,8	+	0,6	
19	0,8	+	0,6	
21	1,4	+	0,7	
17	1,0	+	0,7	
26	1,4	+	0,7	
18	<0,5	-	0,8	
27	<0,5	-	0,8	
36	1,4	+	0,9	
11	<0,5	-	0,9	
40	1,3	+	0,9	
38	0,9	+	1,1	
12	1,9	+	1,1	
22	1,5	+	1,1	
39	1,3	+	1,1	
28	<0,5	-	1,2	
24	1,1	+	1,2	RIA gem. > 1 $\mu\text{g/l}$
29	1,5	+	1,6	
47	2,1	+	1,7	
46	1,5	+	2,5	
48	1,5	+	2,7	
2	<0,5	-	1,0	(20 $\mu\text{g/l}$ )
6	<0,5	-	1,5	(20 + 0,4 DES)
45	<0,5	-	2,1	(20 + 1,3 DES)
16	<0,5	-	1,0	(5 $\mu\text{g/l}$ )
37	<0,5	-	1,7	(5 + 0,8 DES)
43	2,4	+	2,3	(5 + 1,1 DES)



RIKILT



RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1



## REFERENTIES

- 1) Vergelijkend onderzoek naar de aantoonbaarheid van DES in 50 monsters runderurine door middel van radio-immuno-assay. Rapporteur: R.W. Stephany. EVATH-rapport 3 (in voorbereiding).
- 2) Radio-immunologische bepaling van diethylstilbestrol in runderurine na chromatografische voorzuivering. RIKILT Intern Analysevoorschrift G 201 - 1982-01-07.
- 3) Radio-immunologische bepaling van diethylstilbestrol in runderurine zonder chromatografische voorzuivering. RIKILT Intern Analysevoorschrift G 200 - 1982-01-07.
- 4) Het aantonen van diethylstilbestrol, dienestrol en hexestrol in urine. RIKILT-rapport 82.39, waarin RIKILT Intern Analysevoorschrift G 209 - 1982-05-25.
- 5) Het aantonen van diethylstilbestrol, dienestrol en hexestrol in urine. Rapport 83.16, waarin RIKILT Intern Analysevoorschrift G 209a - 1983-02-15.
- 6) Bepaling van diethylstilbestrol in urine met LC-EC. RIKILT Intern Analysevoorschrift G 205 - 1982-01-13.
- 7) Een op massaspectrometrie gebaseerde bevestigingsmethode van diethylstilbestrol in runderurine op het  $\mu\text{g/kg}$  niveau. RIKILT-rapport 81.61 - 1981-07-28.
- 8) Interpretatie van GC-MS resultaten van de bepaling van diethylstilbestrol in runderurine. RIKILT-rapport 81.92 - 1981-12-24.
- 9) L.G.M.Th. Tuinstra, W.A. Traag, H.J. Keukens  
Een op massaspectrometrie gebaseerde bevestigingsmethode van diethylstilbestrol (DES) in runderurine op het  $\mu\text{g/kg}$  niveau. Ware(n)Chemicus 11 (1981) 129-140.
- 10) Een op massaspectrometrie gebaseerde bevestigingsmethode van diethylstilbestrol in runderurine op het  $\mu\text{g/l}$  niveau. RIKILT Intern Analysevoorschrift F 62 - 1982-03-16.
- 11) Vergelijkend onderzoek in Nederland naar de aantoonbaarheid van diethylstilbestrol (DES) in kalver- en runderurine door middel van verschillende chemische methoden. Rapporteur: R.W. Stephany.  
1e EVATH rapport, juli 1982.